

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 05-340915

(43)Date of publication of application : 24.12.1993

(51)Int.CI.

G01N 27/327
G01N 27/28
G01N 27/416

(21)Application number : 04-278390

(71)Applicant : MATSUSHITA ELECTRIC IND CO LTD

(22)Date of filing : 16.10.1992

(72)Inventor : YOSHIOKA TOSHIHIKO
NANKAI SHIRO

(30)Priority

Priority number : 03270839
04 88507

Priority date : 18.10.1991
09.04.1992

Priority country : JP

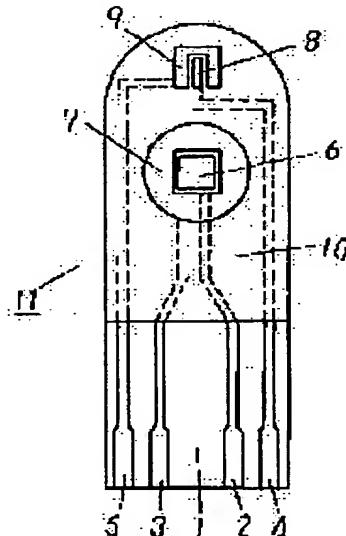
JP

(54) BIOSENSOR AND MEASURING METHOD USING THE SAME

(57)Abstract:

PURPOSE: To realize a biosensor enabling execution of highly precise measurement without pretreatment for removing a disturbing substance, even for a sample solution containing a substance which is oxidized directly by an electrode and disturbs a sensor response, and further to realize a measuring method which can make nonuniformity in the sensor response very small, regarding the biosensor which enables simple execution of quick and highly precise quantification of a specific constituent in the sample solution and the measuring method of the concentration of a substrate which uses the same.

CONSTITUTION: Leads 2, 3, 4 and 5 are formed by printing silver paste by screen printing on an insulative base 1 constituted of polyethylene terephthalate. Next, a measuring electrode 6 of a main electrode system and a subordinate electrode system (a measuring electrode 8, a counter electrode 9) are formed by printing conductive carbon paste containing a resin binder. The measuring electrode 6 is in contact with the lead 2, the measuring electrode 8 with the lead 4 and the counter electrode 9 with the lead 5 respectively.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 29.03.1995

[Date of sending the examiner's decision of rejection] 22.04.1997

[Kind of final disposal of application other than
the examiner's decision of rejection or
application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 2960265

[Date of registration] 30.07.1999

[Number of appeal against examiner's decision
of rejection] 09-08595

[Date of requesting appeal against examiner's decision
of rejection] 22.05.1997

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-340915

(43)公開日 平成5年(1993)12月24日

(51)Int.Cl.⁵
G 0 1 N 27/327
27/28
27/416

識別記号 庁内整理番号
3 3 1 Z 7235-2 J
7235-2 J
7235-2 J

F I

技術表示箇所

G 0 1 N 27/30 3 5 3 P
3 5 3 R

審査請求 未請求 請求項の数7(全7頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願平4-278390
(22)出願日 平成4年(1992)10月16日
(31)優先権主張番号 特願平3-270839
(32)優先日 平3(1991)10月18日
(33)優先権主張国 日本 (JP)
(31)優先権主張番号 特願平4-88507
(32)優先日 平4(1992)4月9日
(33)優先権主張国 日本 (JP)

(71)出願人 000005821
松下電器産業株式会社
大阪府門真市大字門真1006番地
(72)発明者 吉岡 俊彦
大阪府門真市大字門真1006番地 松下電器
産業株式会社内
(72)発明者 南海 史郎
大阪府門真市大字門真1006番地 松下電器
産業株式会社内
(74)代理人 弁理士 小鏡治 明 (外2名)

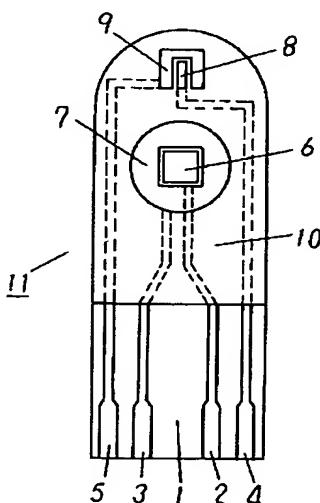
(54)【発明の名称】 バイオセンサおよびそれを用いた測定方法

(57)【要約】

【目的】本発明は、試料液中の特定成分について、迅速かつ高精度な定量を簡便に実施することのできるバイオセンサおよびそれを用いた基質濃度測定方法に関するものであり、電極で直接酸化されてセンサ応答に妨害を与えるような物質の含まれる試料液についても、妨害物除去の前処理をすることなく高精度な測定ができるバイオセンサを実現し、さらにセンサ応答のばらつきが極めて小さくすることができる測定方法を実現することを目的とするものである。

【構成】ポリエチレンテレフタレートからなる絶縁性の基板1に、スクリーン印刷により銀ペーストを印刷し、リード2、3、4、5を形成した。つぎに樹脂バインダーを含む導電性カーボンペーストを印刷して主電極系の測定極6と副電極系(測定極8、対極9)を形成した。測定極6はリード2と、測定極8はリード4と、対極9はリード5とそれぞれ接触している。

1 基板
2,3,4,5 リード
6,8 測定極
7,9 対極
10 絶縁層



【特許請求の範囲】

【請求項1】 絶縁性の基板と、前記絶縁性の基板上に形成された主電極系および副電極系と、前記絶縁性の基板上に直接または間接的に形成した反応層とからなり、前記反応層が酵素を含有することを特徴とするバイオセンサ。

【請求項2】 主電極系と副電極系の対極が共通であることを特徴とする請求項1記載のバイオセンサ。

【請求項3】 電子受容体を含有した反応層が主電極系上に設けられ、副電極系上に少なくとも電子受容体を含有する層を有することを特徴とする請求項1記載のバイオセンサ。

【請求項4】 副電極系上の層に、電子受容体の他に少なくともタンパク質を含有することを特徴とする請求項3記載のバイオセンサ。

【請求項5】 請求項1、2、3または4記載のバイオセンサを用い、主電極系と副電極系の間の電気特性変化から前記2種類の電極系上の試料液の有無を検出することを特徴とする基質濃度の測定方法。

【請求項6】 請求項1、2、3または4記載のバイオセンサを用い、副電極系からの電気信号によって試料液中の還元性の物質を定量することを特徴とする基質濃度の測定方法。

【請求項7】 請求項1、2、3または4記載のバイオセンサを用い、主電極系における電気特性変化と副電極系における電気特性変化とを検知し、前記両電極系における電気特性変化を検知した時間的差異をもとに試料液の物性を判定することを特徴とする基質濃度の測定方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、試料中の特定成分について、迅速かつ高精度な定量を簡便に実施することのできるバイオセンサおよびそれを用いた基質濃度の測定方法に関する。

【0002】

【従来の技術】 試料中の特定成分について、試料液の希釈や攪拌などを行なう事なく簡易に定量しうる方式として、以下のようなバイオセンサが提案されている（特開平3-202764号）。

【0003】 このバイオセンサは、絶縁性の基板上に形成した電極系の表面に親水性高分子と酸化還元酵素および電子受容体の混合物からなる酵素反応層を形成し、前記酸化還元酵素と電子受容体と試料液との反応に際しての物質濃度変化を電気化学的に前記電極系で検知し、前記基質濃度を測定するものである。

【0004】 以下、このバイオセンサの動作を、グルコースセンサを例にして説明する。グルコースを含む試料液をグルコースセンサへ供給すると、酵素反応層が試料液に溶解する。酵素反応層中の酸化還元酵素であるグル

コースオキシダーゼによってグルコースは酸化される。この時、酵素反応層中の電子受容体が還元される。試料液中のグルコースが全て反応した段階で、電極系を構成する測定極と対極間に適当な一定電圧を印加すると、電子受容体の還元体が酸化される。この酸化電流値を測定することにより、試料液中のグルコース濃度を定量することができる。

【0005】 一方、試料液中に測定を妨害する物質が含まれる場合においては次のようなバイオセンサが提案されている（特開平2-310457号）。

【0006】 このバイオセンサは、絶縁性の基板上に形成した電極系上に親水性高分子と酵素および電子受容体からなる酵素反応層を形成し、さらに妨害物質除去用の電極部を附加したものである。

【0007】 試料液を上記バイオセンサへ供給すると妨害物質除去用の電極部で試料液中に存在する還元性の物質は電解酸化される。この後に酵素反応層が溶解し、試料液中の基質との間で酵素反応が進行し、電子受容体が還元される。試料液中の還元性の物質は予め妨害物質除去用の電極部で除去するために安定したセンサ応答を得ることを可能ならしめたものである。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】 上記のような従来のバイオセンサにおいては、試料液として全血を用いた場合に次のような課題を有していた。全血のヘマトクリット（血液中の赤血球容積比）は検体により差がみられ、その差が20%から30%となる場合もある。従来のグルコースセンサを用いてヘマトクリットの異なる全血試料中のグルコースを定量する際には、ヘマトクリットによってセンサ応答が影響を受ける。具体的には、ヘマトクリットの高い全血試料ほどセンサ応答が低くなる傾向があった。

【0009】 さらに、従来の妨害物質除去用の電極を有するバイオセンサを用いて、還元性の物質を多量に含有する試料液中の特定基質を定量する場合には、次のような課題を有していた。

【0010】 試料液中の還元性の物質濃度が高い場合には、前記還元性の物質が妨害物質除去用の電極部において全て電解酸化される前に試料液が酵素反応層に到達し、電極反応に影響を与える。その結果、センサ応答に誤差が生じ、測定精度が低下するといった問題があつた。

【0011】 さらに、試料液の物性として例えば試料液の粘度は、前記溶液中の種々の反応および主電極系による定量に際して影響を与える。それによって、基質濃度が正確に測定できないこともあつた。

【0012】

【課題を解決するための手段】 上記の課題を解決するために本発明は、絶縁性の基板上に主電極系と副電極系とを設たものである。さらに前記主電極系と副電極系間の

電気特性変化から電極上の試料液の有無を判定するものである。さらに前記主電極系と副電極系において各電極系における電気特性変化を検知し、その際の時間的差異をもとに試料液の物性を判定する基質濃度の測定方法である。

【0013】

【作用】本発明は上記した構成により、還元性の物質を含む試料液をバイオセンサに供給すると、副電極系において試料液中の還元性の物質を定量することができる。一方、主電極系においては、試料液に溶解した反応層中の酵素と測定対象となる基質との間で酵素反応が進行し、電子受容体が還元される。前記電子受容体は、同時に試料液中の還元性の物質によっても還元される。従って、主電極系上における電子受容体の還元体の生成量は、測定対象となる基質濃度と還元性の物質との和に依存する。

【0014】本発明によると副電極系により還元性の物質定量が可能であり、それゆえ、主、副両電極系の出力より測定対象となる基質濃度を高精度に定量することができるバイオセンサが実現できる。

【0015】さらに、電極上への試料液の導入を主電極系と副電極系間の電気特性変化から検知することによって、試料液がバイオセンサに十分供給されることを検知することができ、バイオセンサへの試料液供給が不十分な時点で測定を開始するなどといった誤作動を避け、より高精度な測定が可能となる。

【0016】また、本発明の反応層は使用前は乾燥状態にあり、試料液が副電極系に達すると、副電極系を構成する測定極と対極間のインピーダンスが低下する。その電気特性変化から試料液が副電極系に達したことを検知する。つぎに、試料液は主電極系に達すると、副電極系の場合と同様にして、その電気特性変化から試料液が主電極系に達したことを検知する。副電極系と主電極系における電気特性変化の検知の時間的差異は、試料液の粘度等に依存する。したがって、前記時間的差異によって試料液の粘度等を検知し、それに基づいて基質濃度を試料液の物性を予め定性定量することなく正確に定量することが可能となる。

【0017】

【実施例】以下、本発明の実施例について図を参照しながら説明する。

【0018】(実施例1)バイオセンサの一例として、グルコースセンサについて説明する。

【0019】図1は本発明のバイオセンサの一実施例として作製したグルコースセンサのベース平面図、図2は同グルコースセンサのうち反応層を除いた分解斜視図である。

【0020】ポリエチレンテレフタレートからなる絶縁性の基板1に、スクリーン印刷により銀ペーストを印刷し、リード2、3、4、5を形成した。つぎに樹脂バイ

ンダーを含む導電性カーボンペーストを印刷して主電極系の測定極6と副電極系(測定極8、対極9)を形成した。測定極6はリード2と、測定極8はリード4と、対極9はリード5とそれぞれ接触している。

【0021】つぎに絶縁性ペーストを印刷して絶縁層10を形成した。絶縁層10は、測定極6の外周部を覆っており、これによって測定極6の露出部分の面積を一定に保っている。さらに、絶縁層6は、リード2、3、4、5を部分的に覆っている。副電極系(測定極8、対極9)は絶縁層10によって完全には覆われていない。

【0022】つぎに、樹脂バインダーを含む導電性カーボンペーストをリード3と接触するように印刷して主電極系の対極7を形成した。以上により図1に示すベース11を作製した。

【0023】次に、上記主電極系上に酵素としてグルコースオキシダーゼ(EC1.1.3.4;以下GODと略す)および電子受容体としてフェリシアン化カリウムを親水性高分子としてカルボキシメチルセルロース(以下CMCと略す)の0.5wt%水溶液に溶解させた混合水溶液を滴下し、50°Cの温風乾燥器中で10分間乾燥させて反応層を形成した。

【0024】このように親水性高分子、酵素および電子受容体の混合溶液を一度に滴下、乾燥させることによって製造工程を簡略化させることができる。

【0025】上記のようにして反応層を形成した後、カバー22およびスペーサー21を図2中、一点鎖線で示すような位置関係をもって接着した。カバーおよびスペーサーに高分子などの透明な材料を用いると、反応層の状態や試料液の導入状況を外部から極めて容易に確認することができる。

【0026】また、カバーを装着するとカバーとスペーサーによって出来る空間部の毛細管現象によって、試料液はセンサ先端の試料供給孔23に接触させるだけの簡易操作で容易に反応層部分および副電極系部分へ導入される。

【0027】なお、試料液の供給をより一層円滑にするためには、さらにレシチンの有機溶媒溶液を試料供給部(センサ先端部)から反応層にわたる部位に展開し、乾燥させることでレシチン層を形成するとよい。

【0028】前記レシチン層を設けた場合には、絶縁性の基板1とカバー22とスペーサー21によって生じる空間部が毛細管現象を発現し得ない程度の大きさとなる場合においても、試料液の供給が可能となる。

【0029】上記のよう作製したグルコースセンサに試料液としてグルコースとアスコルビン酸の混合水溶液3μlを試料供給孔23より供給した。試料液供給前は、反応層を含めてバイオセンサ全体が乾燥状態である。そこで、試料液が空気孔24部分まで達し、主電極系上の反応層が溶解すると、主電極系の測定極と副電極系の測定極間のインピーダンスが変化する。

【0030】前記インピーダンスの変化により、試料液がバイオセンサに十分に供給されたことを検知し、次に副電極系の対極を基準にして測定極に+1Vを印加し、5秒後の電流値を測定したところ、試料液中のアスコルビン酸濃度に比例した。したがって、副電極系を用いてアスコルビン酸の定量が可能である。

【0031】反応層中のGODおよびフェリシアン化カリウムは特に主電極系上に固定化されたものではないが、反応層が試料液に溶解すると親水性高分子を含むために試料液の粘度が高まり物質の拡散は抑制される。したがって、短時間では反応層構成物質は副電極系上へ移動しない。しかしながら、より信頼性の高い測定を実施するためには酵素およびフェリシアン化カリウムを固定化することも有効である。

【0032】さらに、試料液を供給し、インピーダンス変化を検知してから1分後に主電極系の対極を基準にして主電極系の測定極に+0.5Vを印加し、5秒後の電流値Iを測定した。Iはアスコルビン酸によって還元されて生成したフェロシアン化カリウムの酸化電流と、グルコースがGODによって酸化された際に還元されて生成したフェロシアン化カリウムの酸化電流の和である。

【0033】副電極系によりアスコルビン酸濃度が既知であるため、主電極系において得られた酸化電流値より、試料液中のグルコース濃度を算出することができた。

【0034】つぎに、試料液供給後、主電極系と副電極系間の電気特性変化によって試料液が十分に供給されたことを検知したのちに上記の手順によって得たグルコース濃度と、前記電気特性変化の代わりに目視によってセンサに試料液が十分供給されたことを確認して、上記の手順と同様にして得たグルコース濃度のばらつきをそれぞれ30個のグルコースセンサを用いて比較した。

【0035】その結果、応答のばらつきを表わす変動係数(CV値)は、それぞれ2%と5%であった。本発明の複数の電極系間の電気特性変化によって試料液の供給を検知した方が目視による場合よりばらつきの少ない結果が得られたのは、副電極系および主電極系において応答電流を得る際の時間的なばらつきをより少なくすることができたことによる。

【0036】(実施例2) 図3は本発明のバイオセンサの別の一実施例として作製したグルコースセンサのベース平面図である。

【0037】ポリエチレンテレフタレートからなる絶縁性基板1上に、実施例1と同様にしてスクリーン印刷により図3に示したベース11を形成した。この主電極系(測定極6、対極7)上に実施例1と同様にして、GODとフェリシアン化カリウムとCMCの混合水溶液を滴下した。

【0038】つぎに、副電極系(測定極8、対極9)上にフェリシアン化カリウムとCMCの混合水溶液を滴下

して50°Cの温風乾燥器中で10分間乾燥させて主電極系上に反応層を、副電極系上にフェリシアン化カリウム-CMC層をそれぞれ形成した。

【0039】さらに実施例1と同様にして、カバーおよびスペーサーと共に一体化してグルコースセンサを作製した。

【0040】上記のように作製したグルコースセンサに試料液としてグルコースとアスコルビン酸の混合水溶液3μlを試料供給孔23より供給すると、副電極系上のフェリシアン化カリウム-CMC層と、主電極系上の反応層がそれぞれ溶解した。

【0041】実施例1と同様に、主電極系の作用極と副電極系の作用極間のインピーダンス変化により試料液がセンサに十分供給されたことを検知し、次に副電極系の対極を基準にして作用極に+0.5Vを印加し、5秒後の酸化電流値をI₀とした。

【0042】副電極系上のフェリシアン化カリウムはアスコルビン酸によって還元され、フェロシアン化カリウムが生成する。前記+0.5Vの印加によって得られる酸化電流I₀はこのフェロシアン化カリウムの酸化によるものである。従って、試料液中のアスコルビン酸に比例する。

【0043】上記反応層中のGODは特に主電極系上に固定化されたものではないが、反応層が試料液に溶解すると親水性高分子を含むために試料液の粘度が高まり物質の拡散は抑制される。よって、短時間では反応層構成物質は副電極系上へ移動しない。しかしながら、より信頼性の高い測定を実施するためには酵素を固定化することも有効である。

【0044】さらに、試料液を供給し、前記インピーダンス変化を検知してから1分後に主電極系の対極を基準にして主電極系の作用極に+0.5Vを印加し、5秒後の電流値I₁を測定した。

【0045】I₁はアスコルビン酸による還元で生成したフェロシアン化カリウムの酸化電流と、グルコースがGODによって酸化された際の還元で生成したフェロシアン化カリウムの和の酸化電流である。両電極系における応答性の差を補正する係数をkとすると、I₁-kI₀で得られる電流値は試料液中のグルコース濃度と極めて良く対応した。

【0046】(実施例3) ポリエチレンテレフタレートからなる絶縁性基板1上に、実施例1と同様にしてスクリーン印刷により図3に示したベースを形成した。この主電極系(作用極6、対極7)上に実施例1と同様にして、GODとフェリシアン化カリウムとCMCの混合水溶液を滴下した。

【0047】つぎに、副電極系(作用極8、対極9)上に牛血清アルブミン(以後BSAと略す)とフェリシアン化カリウムとCMCの混合水溶液を滴下して50°Cの温風乾燥器中で10分間乾燥させて主電極系上に反応層

を、副電極系上に B S A - フェリシアン化カリウム - C M C 層をそれぞれ形成した。さらに実施例 1 と同様にして、カバーおよびスペーサーと共に一体化してグルコースセンサを作製した。

【0048】副電極系上に B S A - フェリシアン化カリウム - C M C 層を形成することにより、還元性の物質（例えばアスコルビン酸など）の副電極系上における拡散などの条件が主電極系上と類似したものにできる。

【0049】また、G O D や B S A のようなタンパク質が電極系上に存在する場合には、タンパク質の吸着などによって電極活性が一部低下する場合も有り得るが、上記のように主電極系と副電極系の両者の電極系上にタンパク質を配置することによって、各電極系において検出される酸化電流値の差を小さくすることができる。その結果、主、副両電極系における酸化電流間の補正を簡略化することができる。本効果はカーボンを主体とする電極材料を用いた際に特に有効である。

【0050】また、各電極系の位置関係としてはセンサ先端の試料供給孔 23 から試料液を供給する際には、図 3 のように副電極系を試料供給孔に近い位置に配置することが有効である。すなわち、試料液は試料供給孔から空気孔の方向へと進行するため、G O D を含む反応層は試料液の流れの上流よりも下流に配置する方が副電極系上へのフェリシアン化カリウムの移動確率を減少させることができることによる。ただし、実施例 1 で述べたように、酵素を固定化する際には何等問題とはならない。

【0051】（実施例 4）バイオセンサの一例として、フルクトースセンサについて説明する。

【0052】図 4 は本発明のバイオセンサのさらに別の実施例として作製したフルクトースセンサのベース平面図である。

【0053】図 4 のように、ポリエチレンテレフタレートからなる絶縁性の基板 1 に、スクリーン印刷により銀ペーストを印刷しリード 2、3、4、5 を形成した。つぎに、樹脂バインダーを含む導電性カーボンペーストを用いて主電極系の作用極 6 および副電極系の作用極 8 を印刷形成した。つぎに、絶縁性ペーストを用いて絶縁層 10 を形成した。絶縁層 10 は、作用極 6 および作用極 8 の外周部を覆っており、これによって作用極 6 および作用極 8 の露出部分の面積を一定に保っている。さらに、絶縁層 6 は、リード 2、3、4 を部分的に覆っている。

【0054】最後に樹脂バインダーを含む導電性カーボンペーストをリード 3 と接触するように印刷して対極 7 を形成してベース 11 を作製した。対極 7 は主電極系と副電極系の共通対極である。

【0055】このように主電極系と副電極系の対極部分を共通にすることによって製造工程を簡略化でき、またリードを 1 本減らすことにより製造コストの低減にも寄与することができる。さらに、センサ電極表面の起伏を

少なくすることで反応層の剥離を防ぎ、その結果保存安定性の優れたセンサが得られるとともに、電極上の試料液の移動をより円滑にし精度の高いセンサ応答が得られる。

【0056】次に、上記主電極系の作用極 6 上に酵素としてフルクトースデヒドロゲナーゼ（E C 1. 1. 9 9. 1 1；以下 F D H と略す）および電子受容体としてフェリシアン化カリウムと親水性高分子としてヒドロキシエチルセルロース（以下 H E C と略す）をリン酸緩衝液（p H = 5）に溶解させた混合水溶液を滴下し、40 °C の温風乾燥器中で 10 分間乾燥させて反応層を形成した。

【0057】さらに実施例 1 と同様にして、カバーおよびスペーサーと共に一体化してフルクトースセンサを作製した。

【0058】上記のフルクトースセンサに、フルクトースとアスコルビン酸の混合水溶液 3 μ l を供給し、実施例 1 と同様にして基質であるフルクトース濃度を算出すると、アスコルビン酸濃度にかかわらず試料液中のフルクトース濃度によく一致した。

【0059】（実施例 5）バイオセンサの一例として、グルコースセンサについて説明する。

【0060】実施例 1 と同様にして図 1 に示すベースを作製した。つぎに前記主電極系上に、酵素として G O D 、および電子受容体としてフェリシアン化カリウムおよび親水性高分子として C M C の混合水溶液を滴下し、50 °C の温風乾燥器中で 10 分間乾燥させて反応層を形成した。

【0061】上記のようにして反応層を形成した後、カバー 22 およびスペーサー 21 を図 2 中、一点鎖線で示すような位置関係をもって接着した。

【0062】上記のよう作製したグルコースセンサに試料液として全血を試料供給孔 23 より供給した。試料液を供給する前は、反応層を含めてバイオセンサ全体が乾燥状態である。試料液である全血は、まず副電極系に達し、副電極系の作用極 8 と対極 9 間のインピーダンスが低下する。このインピーダンス変化をリード 4、5 を介して検知する。

【0063】つぎに全血は主電極系上へ達し、主電極系上の反応層が溶解すると、主電極系の作用極 6 と対極 7 間のインピーダンスが低下する。このインピーダンス変化をリード 2、3 を介して検知する。

【0064】反応層が全血に溶解すると、全血中のグルコースが G O D によって酸化されると同時に、フェリシアン化カリウムが還元されてフェロシアン化カリウムが生成する。グルコースセンサに全血を供給して 1 分後に、対極 7 を基準にして +0. 5 V を作用極 6 に印加し、5 秒後の酸化電流を測定した。この電流はフェロシアン化カリウムの酸化に伴うものであり、基質であるグルコース濃度に比例する。

【0065】ヘマトクリットが20%から60%までの全血試料を用いて、前記酸化電流値測定したところ、ヘマトクリットの増加に伴い酸化電流値は低下した。さらに、副電極系と主電極系においてインピーダンス変化を検知した時間の差をtとして、ヘマトクリットが20%から60%までの全血試料を用いたところ、ヘマトクリットの増加に比例して前記tの増加がみられた。

【0066】 つぎに、前記酸化電流値を前記t因子によって補正した値をセンサ応答とした。前記センサ応答は、全血試料のヘマトクリットにかかわらず一定の値が得られた。前記センサ応答は、試料液の全血中に含まれるグルコース濃度にきわめて良い一致を示した。

【0067】また、試料供給孔23と空気孔24は必ずしも区別する必要はなく、試料供給孔23を空気孔として空気孔24より試料液を供給することも可能である。この場合は、まず主電極系においてインピーダンスの変化を検知し、つぎに副電極系においてインピーダンス変化を検知する。この時間的差異 t_2 は必ずしも前記 t_1 とは一致しないが、予め t_2 とヘマトクリットとの関係を調べることで同様の効果が得られる。

【0068】なお、上記実施例ではグルコースセンサとフルクトースセンサについて示したが、本発明はスクロースセンサや、乳酸センサ、コレステロールセンサ、アルコールセンサ、アミノ酸センサなど酵素の関与する反応系に広く用いることができる。

【0069】上記実施例では親水性高分子としてカルボキシメチルセルロースおよびヒドロキシエチルセルロースを用いたが、これらに限定されることはなく、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、ゼラチンおよびその誘導体、アクリル酸およびその塩、メタアクリル酸およびその塩、スターチおよびその誘導体、無水マレイン酸およびその塩、そして、セルロース誘導体、具体的には、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、エチルヒドロキシエチルセルロース、カルボキシメチルエチルセルロースを用いても同様の効果が得られた。

【0070】一方、電子受容体としては、上記実施例に示したフェリシアン化カリウム以外に、p-ベンゾキノン、フェナジンメトサルフェート、メチレンブルー、フェロセン誘導体なども使用できる。

【0071】さらに、酵素としてはグルコースオキシダーゼ、フルクトースデヒドロゲナーゼ以外に、インペル

ターゼ、ムタロターゼ、乳酸オキシダーゼ、コレステロールオキシダーゼ、アルコールオキシダーゼ、キサンチンオキシダーゼ、アミノ酸オキシダーゼ等も用いることができる。

【0072】また、上記実施例において酵素および電子受容体については試料液に溶解する方式について示したが、これに制限されることはなく、固定化によって試料液に不溶化させた場合にも適用することができる。

【0073】また、上記実施例では、測定極と対極のみの二極電極系について述べたが、参照極を加えた三電極方式にすれば、より正確な測定が可能である。

【0074】

【発明の効果】以上のように本発明のバイオセンサによると、センサ応答に妨害を与えるような還元性の物質が含まれる試料液についても、妨害物除去の前処理をすることなく高精度な測定をすることができます。

【0075】さらに、本発明のバイオセンサを用いた基質濃度の測定方法によると、センサ応答のばらつきを極めて小さくすることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明のバイオセンサの一実施例の反応層を除いたグルコースセンサの平面図

【図2】本発明のバイオセンサの一実施例の反応層を除いたグルコースセンサの分解斜視図

【図3】本発明のバイオセンサの他の実施例のグルコースセンサの平面図

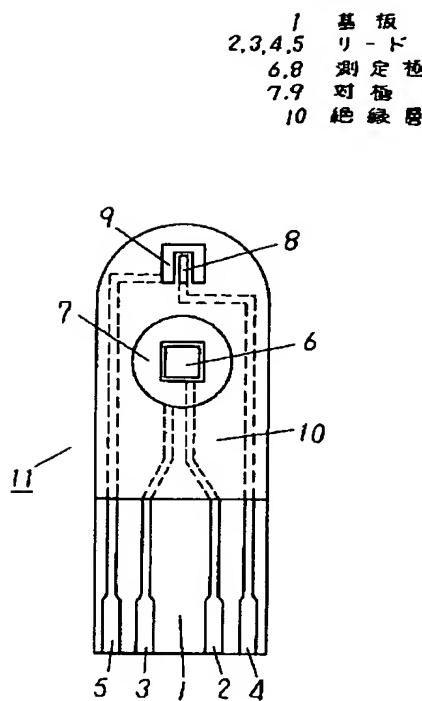
【図4】本発明のバイオセンサの他の実施例のフルクトースセンサの平面図

【簽署の説明】

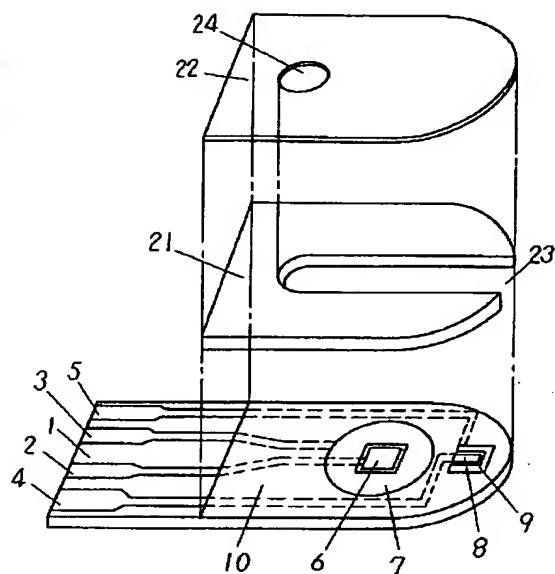
【構造の説明】

30 1 絶縁性の基板
 2、3、4、5 リード
 6 測定極
 7 対極
 8 測定極
 9 対極
 10 絶縁層
 11 ベース
 21 スペーサー
 22 カバー
 40 23 試料供給孔
 24 空気孔

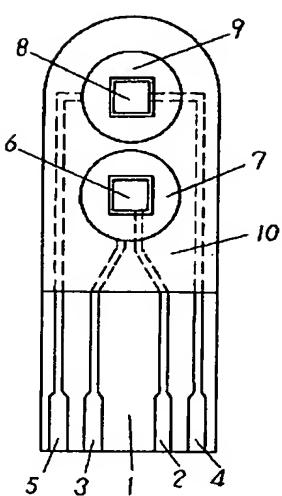
【図1】



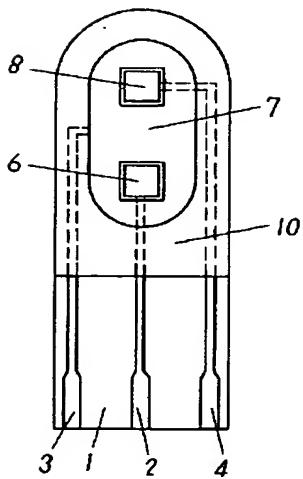
【図2】



【図3】



【図4】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. 5

識別記号

府内整理番号

7235-2 J

F I

G 01 N 27/46

技術表示箇所

3 3 6 B